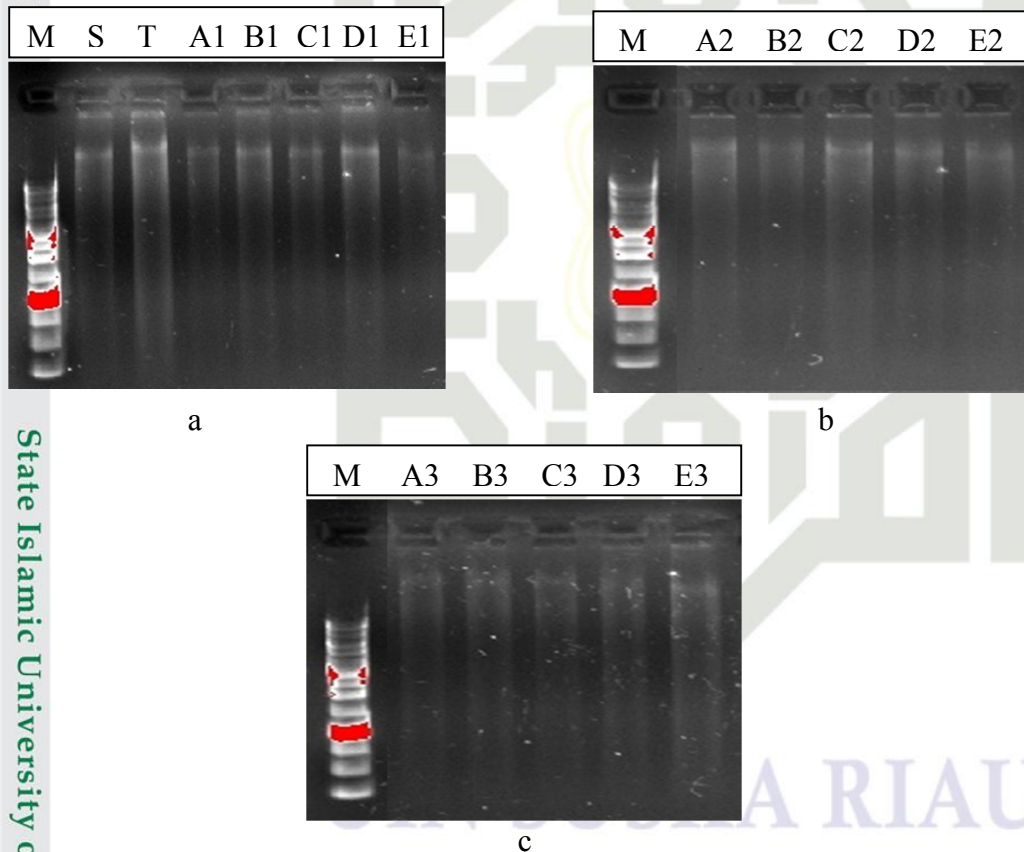


IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Ekstraksi DNA

DNA dari sampel bakso berhasil diekstraksi dengan baik. Hal ini dapat dilihat dari hasil visualisasi DNA, hasil kemurnian DNA dan hasil konsentrasi DNA. Pengujian kualitas DNA hasil ekstraksi secara kualitatif dilakukan dengan proses eklektroforesis pada gel 1% yang dijalankan pada tegangan 100 volt selama 20 menit. Hasil visualisi DNA hasil ekstraksi ditampilkan pada Gambar



Gambar 4.1. Visualisasi DNA hasil ekstraksi pada gel agarosa 1%. a: ulangan 1, b: ulangan 2, c: ulangan 3, M: Marker, S: DNA kontrol sapi, T: DNA kontrol tikus, A1, B1, C1, D1, E1: sampel ulangan 1, A2, B2, C2, D2, E2: sampel ulangan 2, A3, B3, C3, D3, E3: sampel ulangan 3.



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

© Hak Cipta dilindungi Undang-Undang
State Islamic University of Sultan Syarif Kasim Riau

1. Diarangi mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

Isolasi DNA merupakan tahapan terpenting dalam analisis DNA karena akan mempengaruhi mutu DNA yang diisolasi. Karakteristik DNA hasil isolasi sampel bakso secara kualitatif menghasilkan intensitas yang berbeda-beda satu dengan yang lainnya. Pita DNA yang memiliki intensitas tinggi menunjukkan konsentrasi DNA tinggi, begitu pula sebaliknya. Namun demikian, intensitas yang tinggi ini tidak selamanya menunjukkan konsentrasi DNA yang tinggi. Metode ekstraksi menentukan kualitas DNA yang dihasilkan baik secara kualitatif maupun kuantitatif (Rahmadiani, 2016).

Hasil visualisasi DNA ekstraksi secara keseluruhan menunjukkan adanya *smear*. *Smear* dapat disebabkan karena masih terdapat kontaminan seperti protein atau terbawanya larutan pada proses isolasi. Menurut Mulyani dkk (2011), *smear* bisa merupakan sisa dari larutan-larutan yang masih terbawa selama proses ekstraksi atau juga dapat berupa DNA yang terdegradasi pada proses ekstraksi.

Primasari (2010) menyatakan beberapa tahapan penting yang mempengaruhi ekstraksi DNA dari bakso yaitu (1) proses pengolahan secara mekanik, (2) perlakuan pemanasan dan (3) pencampuran bumbu-bumbu. Proses pengolahan secara mekanik diantaranya yaitu pencacahan dan penggilingan daging pada bakso. Beberapa proses tersebut menyebabkan terjadinya perubahan ukuran partikel, bentuk dan komposisi protein penyusun daging, sehingga akan mempengaruhi keadaan sel yang di dalamnya terdapat DNA. Perlakuan pemanasan dengan suhu dan tekanan tinggi diantaranya yaitu perebusan adonan bakso pada suhu diatas 80°C. Proses-proses tersebut selain mengakibatkan protein terdenaturasi juga berpengaruh pada stabilitas DNA. Pencampuran bumbu-bumbu



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

© Hak cipta ini milik UIN Suska Riau

1. Dianggap mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.

2. Dianggap mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

dan bahan lain pada bakso yaitu penambahan tepung tapioka, STPP (sodium tripofat) dan bumbu-bumbu (garam, lada, bawang putih).

Menurut Nuraini (2004) bahan dan bumbu-bumbu yang ditambahkan dalam produk olahan bakso menyebabkan DNA yang diekstraksi masih tercampur dengan senyawa kontaminan seperti oligopeptida, polisakarida, protein dan bahan-bahan organik lainnya. Bumbu-bumbu yang digunakan dalam pembuatan bakso tidak terbaca sebagai DNA.

Banyaknya bahan campuran selain daging memperkecil konsentrasi daging dalam bakso, sehingga peluang terisolasinya protein daging dalam bakso berkurang. Semakin banyak bahan campuran, semakin kecil peluang tersebut (Dewi, 2011).

4.2. Kemurnian DNA Hasil Ekstraksi

Pengujian kemurnian hasil ekstraksi dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer di Fakultas Peternakan IPB Bogor. Pengukuran jumlah DNA melalui spektrofotometer didasarkan pada prinsip iradiasi sinar *ultra violet* yang diserap oleh nukleotida dan protein dalam larutan. Penyerapan iradiasi sinar *ultra violet* secara maksimal oleh DNA dicapai pada panjang gelombang 260 nm, sedangkan penyerapan maksimal oleh protein dicapai pada panjang gelombang 280 nm. Tingkat kemurnian DNA yang berkorelasi dengan kualitas DNA dapat ditentukan dengan melihat rasio antara nilai (OD) 260 dan nilai OD 280 pada sampel DNA yang diukur melalui spektrofotometer (Muladno, 2010). Kemurnian DNA hasil ekstraksi disajikan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Kemurnian DNA hasil ekstraksi.

NO	Kode Sampel	Kemurnian	
		Rasio OD 260/280	Rasio OD 260/230
1	A1	0,96	0,33
2	B1	1,77	1,23
3	C1	0,97	0,28
4	D1	1,74	1,48
5	E1	0,87	0,23
6	A2	0,95	0,25
7	C2	1,17	0,39
8	D2	1,09	0,31
9	E2	1,10	0,30
10	A3	1,09	0,36
11	B3	1,23	0,49
12	C3	1,12	0,44
13	D3	0,91	0,33
14	E5	1,63	0,67

Kemurnian DNA hasil ekstraksi pada rasio OD 260/280 berkisar dari 0,87 sampai 1,77. Muladno (2010) menyatakan bahwa molekul DNA dikatakan murni apabila rasio kedua nilai tersebut berkisar antara 1,8-2,0. Berdasarkan Tabel 4.1. diketahui tingkat kemurnian DNA yang dihasilkan pada setiap sampel berbeda-beda. Diduga hal ini disebabkan adanya kontaminan yang berasal dari bahan campuran bakso yang mempengaruhi kemurnian hasil ekstraksi DNA sehingga nilainya kurang dari 1,8. Hal ini juga dinyatakan oleh Clark *and* Christhopher (2000) bahwa rasio nilai OD 260/280 yang kurang dari 1,8 mengindikasikan adanya kontaminasi dari protein dan atau *phenol* sementara nilai OD 260/280 yang lebih besar dari 2,0 menandakan adanya kontaminasi *ribonucleic acid* (RNA). Kontaminasi protein dan fenol sulit dibedakan karena keduanya dapat terabsorpsi dengan baik pada panjang gelombang 280 nm.

Berdasarkan Tabel 4.1. diketahui nilai rasio absorbansi OD 260/230 nm berkisar 0,23 sampai 1,48. Pada rasio absorbansi 260/230 nm DNA murni berkisar



1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

antara 2-2,2. Jika nilainya lebih rendah dari 2 maka DNA terkontaminasi oleh karbohidrat, bahan organik, atau kemikalia lain (Ningsih dkk, 2016).

4.3. Konsentrasi DNA Hasil Ekstraksi

Konsentrasi DNA hasil ekstraksi disajikan pada Tabel 4.2. Konsentrasi DNA hasil ekstraksi bervariasi antara 8,4 ng/μl-96,4 ng/μl. Konsentrasi DNA yang diperoleh berbeda-beda pada setiap sampel.

Tabel 4.2. Konsentrasi DNA hasil ekstraksi.

NO	Kode Sampel	Konsentrasi (ng/μl)
1	A1	14,4
2	B1	81,0
3	C1	37,8
4	D1	96,4
5	E1	10,1
6	A2	34,6
7	C2	36,0
8	D2	30,3
9	E2	22,2
10	A3	8,4
11	B3	25,6
12	C3	11,9
13	D3	15,5
14	E5	68,7

Primasari (2010) menyatakan hasil pengukuran rasio absorbansi pada panjang gelombang 260-280 nm sangat beragam tergantung pada sumber DNA yang diperoleh. Beberapa hal yang berperan dalam mempengaruhi konsentrasi DNA yang dihasilkan adalah metode ekstraksi yang digunakan, rusaknya DNA dan adanya zat pengotor atau kontaminan seperti fenol atau protein lainnya. Umumnya, jaringan atau sampel mentah lebih mudah diekstraksi dibandingkan dengan jaringan atau sampel yang telah dimasak (Nuraini, *et al.*, 2012). Namun secara umum DNA hasil ekstraksi dari seluruh sampel dapat digunakan untuk proses amplifikasi.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

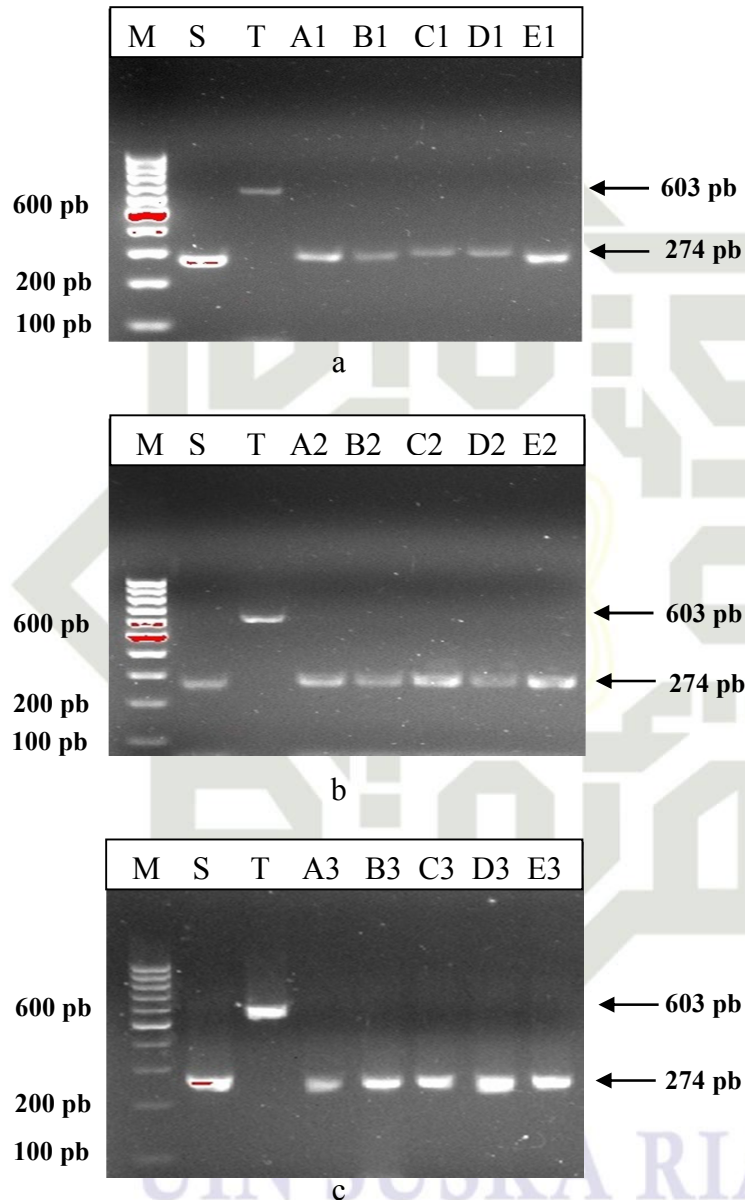
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

4.4. Amplifikasi Fragmen DNA *cyt b* Spesifik pada Bakso

Fragmen DNA *cyt b* spesifik pada bakso berhasil diamplifikasi dengan baik menggunakan teknik *duplex* PCR pada mesin *thermocycler*. Hasil amplifikasi fragmen DNA ditampilkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2. Visualisasi hasil amplifikasi fragmen DNA *cyt b*. a: ulangan 1, b: ulangan 2, c: ulangan 3. M: marker 100 pb, S: kontrol DNA sapi, T: kontrol DNA tikus, A1, B1, C1, D1, E1: sampel ulangan 1, A2, B2, C2, D2, E2: sampel ulangan 2, A3, B3, C3, D3, E3: sampel ulangan 3.



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

© Hak Cipta dilindungi Undang-Undang
Ditulis oleh: Nisa Fauziah
State Islamic University of Sultan Syarif Kasim Riau

1. Diarangi mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Diarangi mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

Berdasarkan hasil amplifikasi fragmen DNA pada Gambar 4.2. diketahui tidak terdapat campuran daging tikus dalam semua sampel bakso yang digunakan. Tidak ada satu kali pun DNA tikus teramplifikasi pada penelitian ini. Hanya DNA sapi yang teramplifikasi dan terlihat pada gel agarosa.

Berdasarkan Gambar 4.2. juga diketahui intensitas pita DNA terlihat beragam. Dewi (2010) menyatakan hal ini sesuai dengan banyak sedikitnya DNA daging yang terisolasi dari bakso. Semakin banyak daging yang digunakan dalam adonan bakso, semakin besar peluang DNA terisolasi dari daging. Semakin banyak DNA daging terisolasi, semakin tinggi pula intensitas pita DNA yang tampak pada gel.

Penggunaan *duplex* PCR dan kemampuan gen *cyt b* terbukti berhasil mendeteksi dan mengidentifikasi jenis atau sumber daging secara cepat, tepat dan akurat (Primasari, 2010). Kespesifikan gen *cyt b* terbukti dengan teramplifikasinya DNA pada sapi dan tikus dengan panjang fragmen yang berbeda-beda sesuai dengan yang diharapkan. Teknik *duplex* PCR memperlihatkan hasil yang sangat baik untuk deteksi cemaran tikus pada produk olahan daging seperti bakso karena cemaran daging tikus dapat terdeteksi pada level cemaran 1% sehingga teknik ini berpotensi handal dan tepat dalam analisis keamanan pangan khususnya untuk sertifikasi aman dan halal (Primasari, 2010). Keberhasilan amplifikasi DNA yang berasal dari produk bakso disajikan dalam Tabel 4.3.



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Diarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.

2. Diarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

Tabel 4.3. Hasil amplifikasi DNA

No	Kode Sampel	Sapi (274 Pb)	Tikus (603 Pb)
1	S	+	-
2	T	-	+
3	A1	+	-
4	B1	+	-
5	C1	+	-
6	D1	+	-
7	E1	+	-
8	A2	+	-
9	B2	+	-
10	C2	+	-
11	D2	+	-
12	E2	+	-
13	A3	+	-
14	B3	+	-
15	C3	+	-
16	D3	+	-
17	E3	+	-

Keterangan: + (Teramplifikasi), - (Tidak teramplifikasi)

Keberhasilan amplifikasi dalam reaksi PCR ditentukan oleh ada tidaknya primer oligonukleotida yang menempel dan menyatu dengan DNA. Primer akan menempel pada DNA genom yang memiliki susunan basa nukleotida yang komplemen dengan susunan basa pada primer (Sunandar dkk., 2010). Selain ditentukan dari ada tidaknya situs penempelan primer, keberhasilan amplifikasi dipengaruhi pula oleh volume dan konsentrasi komponen dalam reaksi PCR, antara lain enzim DNA polymerase, templat DNA, primer, dNTPs, *buffer*, serta kondisi reaksi PCR (Sambrook *et al.*, 2001).

UIN SUSKA RIAU